

Р. Ф. Беккулова, И. С. Селезнева, О. С. Ельцов

Уральский федеральный университет, г. Екатеринбург

tynafa@rambler.ru

ИССЛЕДОВАНИЕ ФЕРМЕНТАТИВНОГО ГИДРОЛИЗА КАСТОРОВОГО МАСЛА ЛИПАЗОЙ ИЗ *CANDIDA RUGOSA* В ФЕРМЕНТАТОРЕ

В работе рассмотрен метод ферментативного гидролиза касторового масла как одно из решений проблемы энерго- и ресурсосбережения в синтезе рицинолевой кислоты.

Ключевые слова: *ресурсосбережение, касторовое масло, рицинолевая кислота, липаза, ферментативный гидролиз.*

R. F. Bekkulova, I. S. Selezneva, O. S. Yeltsov

Ural Federal University, Ekaterinburg

RESEARCH OF ENZYMATIC HYDROLYSIS OF CASTOR OIL USING LIPASE FROM *CANDIDA RUGOSA* IN THE ENZYMATOR

The work considers the method of enzymatic hydrolysis of castor oil as one of the solutions to the problem of energy and resource conservation in the synthesis of ricinoleic acid.

Keywords: *resource saving, castor oil, ricinoleic acid, lipase, enzymatic hydrolysis.*

Касторовое масло, получаемое из семян клещевины, относится к невысыхающим жидким маслам и содержит до 85 % рицинолевой кислоты, а современные селекционированные сорта клещевины позволяют получать масло с содержанием рицинолевой кислоты до 95 %. Основные мировые производители касторового масла – Индия и Китай [1]. На долю этих стран приходилось 356 тыс. т семян клещевины из 646 тыс. т мирового сбора. Выращивание этой

культуры не только сопряжено большими затратами труда, но и требует использования наиболее плодородных земель. В зависимости от урожая клещевины цены на международном рынке на касторовое масло резко колеблются (в среднем стоимость 1 л составляет 580 руб.). Благодаря высокому содержанию рицинолевой кислоты касторовое масло широко используется в медицине и ветеринарии, а такие свойства, как высокая вязкость, оксистабильность и большая плотность, позволяют использовать это масло в промышленности для различных целей. Одним из важнейших направлений в использовании касторового масла является получение рицинолевой кислоты. Она представляет интерес для медицины, поскольку обладает эффективным бактерицидным, противовоспалительным и противогерпетическим действием. Однако основная область ее применения – органический синтез: получение ряда кислот (себадиновой, ундециленовой и азелаиновой), гептанола, 2-октанола, ПАВ и других ценных продуктов [2].

Получают рицинолевою кислоту гидролизом касторового масла, а далее, при изменении условий гидролиза (повышение температуры, концентрации щёлочи), можно получить себадиновую кислоту. В промышленности используют щелочной гидролиз при 150°C и 3,5 МПа с последующим подкислением. Получаемая кислота содержит много примесей, в частности трудно отделяемый сульфат натрия. При этом кроме рицинолевой кислоты образуется дирицинолевая, а при более высоких температурах – также тетра- и пентарицинолевые кислоты [2]. В связи с этим, для снижения расхода электрической энергии и сырьевых ресурсов представляет интерес заменить химический гидролиз на ферментативный, который позволил бы получить рицинолевою кислоту в индивидуальном виде высокой степени чистоты при более низкой температуре 35–45 °C и без повышения давления [3].

Поэтому целью настоящей работы было подобрать термостабильный ферментный препарат с высокой каталитической активностью и разработать эффективный метод ферментативного гидролиза касторового масла, обладающего высокой вязкостью.

В качестве фермента использовали препарат Lipase from *Candida rugosa*, Type VII, лиофильно-высушенный (производитель Пущинские лаборатории, стоимость 5 г составляет 5000 руб.). Ферментативную активность определяли модифицированным методом Ота, Ямада, она составила 825 ед./мг.

Ферментативный гидролиз касторового масла липазой из *Candida rugosa* проводили в ферментаторе объёмом 3 л в Инновационном центре химико-фармацевтических технологий (рис. 1).

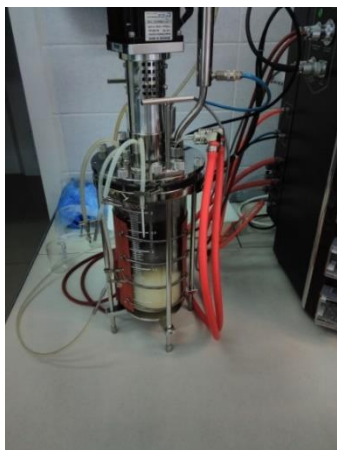


Рис. 1. Ферментативный гидролиз в ферментаторе

Перемешивали смесь в течение 20 мин при 25 °С до получения однородной эмульсии. Сухую липазу массой 2 г вводили в 2000 мл эмульсии. Далее реакцию проводили при 40 °С с перемешиванием (250 об./мин) в течение 25 ч.

Результаты ферментативного гидролиза представлены в табл. 1.

Таблица 1

Результаты ферментативного гидролиза

Время, ч	Объём щёлочи, мл	Выход жирных кислот, мкМ/мл
0	0,5 (без фермента)	-
1	7	65
2	11	105
3	16	155
4	19	185
5	23	225
6	26	255
7-20	-	-
21	63	625
22	67	665
23	66	655
24	64	635
25	60	595

Выход жирных кислот (мкМ/мл) определяли титрованием и рассчитывали по формуле (1):

$$A = (O - K)T \cdot 100, \quad (1)$$

где O – количество 0,1 н спиртового раствора NaOH, пошедшего на титрование пробы, мл; K – количество 0,1 н спиртового раствора NaOH, пошедшего на титрование контрольного образца, мл; T – титр щелочи; 100 – коэффициент пересчета [2].

$$A = (7 - 0,5)0,1 \cdot 100 = 65 \text{ мкМ/мл.}$$

По данным эксперимента был построен график, показывающий зависимость выхода жирных кислот от времени при ферментативном гидролизе касторового масла (рис. 2).

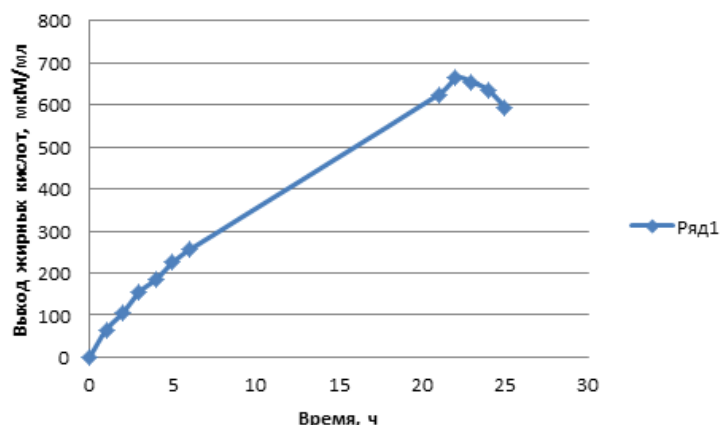


Рис. 2. Зависимость выхода жирных кислот от времени при гидролизе касторового масла в оптимальных условиях в ферментаторе

Из таблицы и графика видно, что сначала выход кислот увеличивается, достигая максимума к 22 часам, а затем снижается. Содержание рицинолевой кислоты в смеси составляет 82,5 %. Таким образом, в результате проведенных исследований удалось заменить химическую стадию щелочного гидролиза касторового масла на менее энергоемкий ферментативный гидролиз с помощью иммобилизованного ферментного препарата.

Список использованных источников

1. Лечебно-профилактическая и косметическая композиция : пат. 2166309 Рос. Федерация / Разумова Т. Н. ; заявл. 26.06.2000 ; опубл. 10.05.2001.
2. Meenal S. Puthli, Virendra K. Rathod, Aniruddha B. Pandit. Enzymatic hydrolysis of castor oil : Process intensification studies // India Biochemical Engineering Journal. 2006. Vol. 31. P. 31–41.
3. Synthesis of fatty esters by polyethylene glycol – modified lipase / B. Mahiran, A. Kamaruzaman, J. Zinwan, R. Che Nyonya, S. Bakar // J. Chem. Technol. and Biotechnol. 1995. Vol. 64, № 1. P. 10–16.